

Translation of Reference 2:

Japanese Association for Oral Biology 45th annual meeting on September 1, 2003
by Yukie SHIBATA, Hideki KAWADA, Yoshio NAKANO, Hirokata TSUDA, Yoshihisa
YAMASHITA (Kyushu University etc.)

Cloning of autolytic enzyme gene in carious bacteria

Object: Autolytic enzyme produced by bacteria is involved in metabolic turnover of cell wall and has important physiological function essential in bacterial growth, mitosis and separation. We recently isolated a gene coding an autolytic enzyme from chromosomal gene of *Streptococcus mutans* and report it.

Materials and Methods: We prepared a clone bank, wherein complete Sau3AI digested fragments of chromosomal DNA of *S. mutans* Xc strain were integrated in an integration vector. The transformed strain by the clone bank was seeded on agarose plates containing heat-killed *S. mutans* cells, and then mutants without autolytic activity were selected. Furthermore, molecular weight of autolytic enzyme was determined by Zymography.

Results and Discussion: Nucleotide sequence analysis of the integration vector-insert region of an autolytic activity-deficient mutant obtained by the above manipulation showed a mutation on a gene coding a protein with deduced molecular mass 107 kDa containing 979 amino acid residues. We prepared a mutant strain (Xc-AT) inactivated by the insertion of the present gene and compared Xc strain with Xc-AT strain by Zymography. According to the results, crude enzyme fraction of Xc strain showed clear bacteriolytic bands at 100kDa and 80 kDa, while Xc-AT strain showed no bacteriolytic bands. Furthermore, observation of both strains under a microscope after gram staining showed that Xc-AT strain formed much longer chain than Xc strain. Therefore, it was suggested that the present gene coded a main autolytic enzyme in *S. mutans*.

整理番号:PS03-1603

發送番号:720001

発送日:平成21年10月30日

2/E

本複製物は、特許庁が著作権法第42条第2項第1号の規定により複製したものです。
形態にあつては、著作複製物とならないよう十分に注意ください。

前基团在 45 号 5 号(按顺式), 2003

243

バイオフィルム形成及び発酵過程における
Glucose, GTP-ase の産生と存在性

○田四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九、二十、二十一、二十二、二十三、二十四、二十五、二十六、二十七、二十八、二十九、三十、三十一、三十二、三十三、三十四、三十五、三十六、三十七、三十八、三十九、四十、四十一、四十二、四十三、四十四、四十五、四十六、四十七、四十八、四十九、五十、五十一、五十二、五十三、五十四、五十五、五十六、五十七、五十八、五十九、六十、六十一、六十二、六十三、六十四、六十五、六十六、六十七、六十八、六十九、七十、七十一、七十二、七十三、七十四、七十五、七十六、七十七、七十八、七十九、八十、八十一、八十二、八十三、八十四、八十五、八十六、八十七、八十八、八十九、九十、九十一、九十二、九十三、九十四、九十五、九十六、九十七、九十八、九十九、一百。

[illegible]

248

不揮性アルカン含炭酸脂質デキストリン配合の産生
性解析

○熊本 一博¹、井上 哲生¹、児玉 孝雄²、
(¹岡山大学 医学部 口腔歯生物、²九州工大
情報工 企業化学システム工学)

Streptococcus mutans GT15 の不溶性グルカン合成酵素の C 末端がギヤストラン結合部位の XH 556 位は、結合反応に関与してリボース側鎖に結合している。また、ギヤストラン結合部位にリボース側鎖の転移を妨げるように、4 つの DXB 大側鎖残基 (B35 位、B36 位、B44 位、B47 位、B59 位) に DXB、200 倍濃度の DXB を添加し、研究を進めていく。今回、専ら遊離グルカン量により、ギヤストラン結合によるエンタールピー酸化 (EA)、結合強度及び結合割合 (DXB) に結合するグルカンとエンタールピー酸化後、DXB とギヤストラン結合の物理化学的性質を調査した。その結果、遊離グルカンとギヤストラン結合の結合率は、 $EA_{90} = 0.134 \pm 0.01$ 、 $EA_{100} = 0.24 \pm 0.01$ 、 $EA_{120} = 0.34 \pm 0.01$ 、 $EA_{140} = 0.48 \pm 0.01$ 、 $EA_{160} = 0.61 \pm 0.01$ 、 $EA_{180} = 0.74 \pm 0.01$ 、 $EA_{200} = 0.86 \pm 0.01$ 、 $EA_{220} = 0.91 \pm 0.01$ 、 $EA_{240} = 0.94 \pm 0.01$ 、 $EA_{260} = 0.96 \pm 0.01$ 、 $EA_{280} = 0.97 \pm 0.01$ 、 $EA_{300} = 0.98 \pm 0.01$ 、 $EA_{320} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{340} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{360} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{380} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{400} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{420} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{440} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{460} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{480} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{500} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{520} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{540} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{560} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{580} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{600} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{620} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{640} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{660} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{680} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{700} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{720} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{740} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{760} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{780} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{800} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{820} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{840} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{860} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{880} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{900} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{920} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{940} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{960} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{980} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1000} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1020} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1040} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1060} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1080} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1100} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1120} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1140} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1160} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1180} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1200} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1220} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1240} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1260} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1280} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1300} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1320} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1340} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1360} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1380} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1400} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1420} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1440} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1460} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1480} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1500} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1520} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1540} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1560} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1580} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1600} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1620} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1640} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1660} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1680} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1700} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1720} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1740} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1760} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1780} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1800} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1820} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1840} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1860} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1880} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1900} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1920} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1940} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1960} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{1980} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2000} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2020} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2040} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2060} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2080} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2100} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2120} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2140} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2160} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2180} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2200} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2220} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2240} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2260} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2280} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2300} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2320} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2340} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2360} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2380} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2400} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2420} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2440} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2460} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2480} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2500} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2520} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2540} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2560} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2580} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2600} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2620} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2640} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2660} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2680} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2700} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2720} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2740} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2760} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2780} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2800} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2820} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2840} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2860} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2880} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2900} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2920} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2940} = 0.99 \pm 0.01$ 、 $EA_{2960} = 0.99 \pm 0.01$ 、 EA_{2

Reference 2

244

川口松太郎の日本無名作家伝のクローニダ
川口松太郎、川口松太郎、中野実、森田
高方、山下 喜久、九大院、山口松太郎、
松太郎、日本、日本、日本

【日約】胚盤が産生する自己融解酵素は加糖型の代謝経路に関与し、量の増大、分布、分離などにおいて欠点に比べてかなり重要な生理的調節を有する。今回、*Symplectic embryo* の発生を遺伝子から自己融解酵素をコードする遺伝子で管理したところ、報告した。[討刺および方法] *Xenopus* 卵の細胞内 DNA の Xc 遺伝子発現断片をインデグレーションベクターに組み込んだタロンベクターを作製した。木のローソク板を用いて得られた胚質細胞を S 型酵素の加糖型産物を含有したタロンプレート上に播種し、自己融解酵素を失った胚質細胞を選択した。さらに、自己融解酵素の分子量の検出には *Zymography* を用いた。結果として高量に上の操作で得られた自己融解酵素欠損細胞のインデグレーションベクター導入領域の直近位置で欠失したところ。37% の Φ 因子感染からなる野生型分子量 107 kDa の産物をコードする遺伝子で正常なものと区別することができた。本遺伝子を導入した正常細胞 (Xc -AT) を作製し、 Xc 欠損と Xc -AT 細胞において *Zymography* を行った結果、 Xc 欠損細胞層分では 100 kDa 未満の位置に正常細胞層分では観察されなかった。一方、 Xc -AT 細胞においては正常の帯幅に認められた。また、両細胞で Φ 因子感染、感染後で得られたところ、 Xc -AT 細胞は Xc 細胞に比べて非常に長い遊泳速度を示した。以上の結果から、本報告する *S. embry* の主要な自己融解酵素をコードしていることが分かった。

246

①阿部 風子¹、阿部 一雄²、高橋 信博³
 ②東北大学 医歯 口腔生化学分野、³東北大学
 歯学部口腔病 学系(仙台市青葉区)

【目的】ニュートンシレン系乳歯は、造牙条件下において、脱性環境下でも乳歯を形成する能力(DH)の減退および乳歯を発生し続けることができない。一方、自然条件下では、脱性環境下でもLDHの発生は完全に抑制されない。本論文では、FBPとLDHの発生が歯胚に与える影響について報告された。そして、FBPとLDHは酸性化作用が歯胚の一過剰刺激により、歯体内脱性環境を抑制し、LDH発生を抑制する方向でpHの移動を促した。【方法】新生児牛、マウスタン地歯の歯胚を培養し、pH 5.0 Simplicon buffer (NCI 71048)のpH止にpH 7.0またはpH 4.0で10日間カルチャーを代えた。FBPとPIの両方の濃度を、代謝活性を測定した。【結果】*S. acidus*にpH 2.0で7日間カルチャーを代えたときのFBP濃度は7.6 mM、PI濃度は20.6 mMであった。一方、pH 4.0でのFBP濃度は4.4 mM、PI濃度は25.0 mMであった。酸性条件下でもFBPの歯胚内濃度が減少した。PI濃度はほとんど変化しなかった。また、歯胚発生は、pH 7.0とpH 4.0でそれぞれ1.40および0.93 mmol/mg of cellsであり、酸性条件下で歯胚が多数に発生することを示した。【結論】以上のことから、ニュートンシレン系乳歯は、自然条件下では酸性環境下でも歯体内のFBP濃度を高く維持するためLDHが主に働く状態になり、このことが酸性環境下でも乳歯を発生し続ける要因の一つであると示された。